Dr. Justyn Karliński

1891-96

(9)

SEPARATABDRUCK

AUS DEM

ARCHIV FÜR HYGIENE.

München

1891

Untersuchungen über das Verhalten der Typhusbacillen im Boden.

Von

Dr. Justyn Karliński
in Konjica, Herzegovina.

Trotz der zahlreichen Untersuchungen über die Biologie des Typhusbacillus, die im Verlaufe der letzten 10 Jahre veröffentlicht worden sind, bleiben dennoch genug dunkle und bis jetzt von den Forschern nur wenig berührte Punkte; ja es macht sogar den Eindruck, als ob Untersuchungen in mancher Hinsicht, wie z. B. über das Verhalten der Typhusbacillen im Boden, über deren Verbreitung im menschlichen Organismus während der Infection, die specifische Wirkungsweise derselben, sorgfältig von den Forschern gemieden werden.

Es mag sein, dass die Schwierigkeiten, die für einen wenig Geübten die einwandsfreie Differenzirung bietet, sowie auch die Unmöglichkeit einwandsfreie Thierversuche anzustellen, die Hauptrolle bei dieser Vernachlässigung spielen; meiner Ansicht nach hat die allgemeine Pathologie und Epidemiologie das Recht, von der so Bahn brechend fortschreitenden Forschung die Beseitigung dieser Mängel zu fordern.

Ueber das Verhalten der Typhusbacillen im Boden liegen bis dato sehr spärliche Angaben vor. Gelegentlich seiner Untersuchungen über das Vorkommen von Mikroorganismen in den verschiedenen Bodenschichten [1]) hat Prof. C. Fränkel einige

1) Zeitschrift für Hygiene. Bd. II. S. 579—580.

Versuche über das Verhalten von Typhusculturen in verschiedenen Bodentiefen angestellt. In wagrechte Stollen, die von den seitlichen Wänden eines Brunnenkessels abgingen, stellte er kleine Doppelschälchen mit Nähragar und Rollplatten, die mit Typhusbacillus besät waren, auf, und bei Berücksichtigung der Temperatur des Stollens beobachtete er in welcher Tiefe dieselben noch zu wachsen vermochten. Er kam dabei zu keinen einheitlichen Resultaten, die Culturen, die in 1½ m Tiefe aufbewahrt waren, wuchsen von April bis December gut auf, dagegen schon bei 2 m Tiefe blieb das Wachsthum in der Zeit vom 28. April bis 16. Mai, dann zwischen 13. bis 20. Juli und zwischen 8. November bis 4. December aus, und bei 3 m Tiefe hatte das Wachsthum in den Monaten April, Mai, November und December aufgehört.

Grancher und Deschamps[1]) stellten eine grössere Reihe von diesbezüglichen Untersuchungen an; sie constatirten, dass die auf die Oberfläche der Erde aufgelegten Typhusbacillen mit der Bewässerung bis auf 40—50 cm Tiefe einzudringen vermochten, dass dieselben 5½ Monate daselbst trotz der verschiedenen und zahlreichen Organismen zu vegetiren vermögen.

Hierher gehören noch die im Centralblatt für Bacteriologie Bd. VI Nr. 3 [2]) verzeichneten zwei Versuche des Verfassers, aus denen hervorgeht, dass die Typhusbacillen, welche in typhösen Fäces enthalten waren und mit doppelter Menge sterilisirter Erde vermengt wurden, sich in der Temperatur des Bodens über 3 Monate zu halten vermochten; während dieselben bei reichlicher Bewässerung nach einem Monate zu Grunde gingen.

Die Versuche Grancher's und Deschamps lassen einen sehr wichtigen Einwand zu — die Verfasser benützten das bekannte Noeggerath'sche Verfahren, als fast alleiniges Unterscheidungsmerkmal der Typhusbacillen — ein Verfahren, welches weder sichere noch einheitliche Resultate liefert. Wie ich mich

1) Recherches sur le bacille typhique dans le sol. Archives de médecine experimentale et d'Anatomie pathologique. 1889. Tome I.

2) Karlinski, Untersuchungen über das Verhalten der Typhusbacillen in typhösen Dejectionen. S. 74.

wiederholt überzeugen konnte, werden die nach Noeggerath gefärbten Gelatineplatten durch frische Culturen des Bacterium colli commune, durch den Bacillus enteritidis, durch den Bacillus der Svineplague und durch sechs Wasserbacterien entfärbt. Die französischen Autoren müssen schon den Vorwurf einer Ungenauigkeit auf sich nehmen, zum mindesten sind die Ergebnisse ihrer Forschungen mit einer gewissen Reserve aufzunehmen, ihre Versuche gehören in die Categorie jener grossen Reihe von Laboratoriumsversuchen, die keineswegs verallgemeinert werden dürfen. Sie haben sich auf die Experimente mit Reinculturen des Typhusbacillus ohne Berücksichtigung der natürlichen Bodenverhältnisse, wie Bodenfeuchtigkeit, Temperatur und Porosität beschränkt, daher können die Ergebnisse nicht ohne Weiteres und wie meine nachher zu beschreibenden Controluntersuchungen beweisen, fast gar nicht auf die natürlichen Verhältnisse übertragen werden.

Die von mir, in der Frage nach dem Verhalten des Typhusbacillus im Boden, angestellten Versuche, wurden im Zeitraume von 2½ Jahren in Stolač und in Konjica in der Herzegovina ausgeführt; sie zerfallen in zwei Gruppen: in der ersten experimentirte ich mit Reinculturen des Typhusbacillus und verschiedenen Erdproben, in der zweiten mit typhushaltigen Dejectionen und Organen unter Berücksichtigung der natürlichen Bodenverhältnisse meiner Aufenthaltsorte.

Zur Differenzirung der auf Rollculturen oder Platten aufgewachsenen Typhusbacillen bediente ich mich, in jedem einzelnen Falle, der einzig verlässlichen, obschon zeitraubenden Kartoffelcultur, indem zum Vergleich der aufgefundenen Colonien stets Controlimpfungen von unzweifelhaften Typhusbacillen sicherer Provenienz, auf gleiche Stücke derselben Kartoffelsorte, mit Berücksichtigung des gleichen Garseins und der Reaction der Kartoffelstücke wie auch der Temperatur vorgenommen wurden.

Versuch I.

Gelegentlich eines Neubaues wurde am 4. März 1889, eine grössere Partie Erde ausgenommen, dieselbe enthielt in 100 Theilen

0,3 % von einer Korngrösse von 2 mm, 1.2 % von 1,55 mm, 1,4 % von 1 mm, 86 % von 0,5 mm und 10 % von 0,1 mm. Ein Kilogramm dieser Erde wurde in einer Eisenröhre durch drei nacheinander folgende Tage ausgeglüht, um sie möglichst keimfrei zu machen. In zehn Rollculturen wuchsen nur zwei Colonien eines braunen Schimmelpilzes, in zehn weiteren Rollculturen, die unter Sauerstoffabschluss gehalten waren, wuchsen im Ganzen vier Colonien eines verflüssigenden stinkenden Bacillus. Die auf diese Weise sterilisirte Erde wurde in einen durch Wasserdampf sterilisirten Glascylinder geschüttet, nachdem dieselbe ²/₃ der Höhe desselben ausmachte, wurden 15 ccm einer Typhusbacillenaufschwemmung, welche aus vier Pilzrasen von ebenso vielen schräg erstarrten Agarröhrchen geschüttet, und mit einer 15 cm hohen sterilisirten Erdschichte unter mässigen, mittelst einer ebenfalls sterilen Metallscheibe ausgeübtem Drucke, gestampft. Auf die Erdschichte, auf welche jene Typhusbacillenaufschwemmung gegeben worden war, wurde ein feines Messingdrahtnetz gelegt, zu dem Zwecke, um beim nachherigen Ausgraben dieselbe zu erkennen. Oberhalb des Drahtnetzes befand sich noch ein genauer Maximalthermometer, um die Temperatur des Bodens zu controliren, der Cylinder wurde in Zimmertemperatur von 14—18° C. aufbewahrt.

In einen zweiten Cylinder gleicher Höhe und Weite, wurde dieselbe Erde ohne vorhergehende Sterilisation gethan, mit gleich grosser Menge Typhusbacillenanschwemmung versehen, und unter denselben Maassregeln wie oben aufbewahrt. Im Cylinder Nr. III und IV habe ich die oben geschilderte Procedur wiederholt mit dem Unterschiede, dass während die Erde im Cylinder I und II, während der ganzen Beobachtungszeit trocken blieb, die Erde, die in den Cylindern III und IV aufbewahrt war, je 10 Tage mit je 10 ccm destillirten und sterilisirten Wassers begossen wurde. Nach dreimonatlichem Verweilen in Zimmertemperatur, ohne dass die Cylinder von der Sonne beschienen waren, wurden die Thermometer herausgenommen, und während die Maximaltemperatur des Laboratoriums 18° C. betrug, zeigten die Thermometer

im Cylinder I = 18,0° C.
» » II = 18,4° C.
» » III = 18,1° C.
» » IV = 18,6° C.

ich muss hervorheben, dass das Maximalthermometer, welches die Zimmertemperatur ansagte, sich unmittelbar in der Nähe jener Glascylinder befand, und dass alle Thermometer unter einander und einzeln mit dem Normalthermometer verglichen, resp. ihre Differenzen genau corrigirt wurden. Nach Wegnahme der Erdschichten, welche oberhalb des Drahtnetzes lagen, wurden aus jedem Cylinder kleine Mengen Erde weggenommen und zur bacteriologischen Untersuchung[1]) verwendet. Die Entnahme der Erdproben geschah mittelst eines Platinstreifens, dessen Ende löffelartig ausgehöhlt war. Die Aushöhlung fasste, wie ich mich durch zahlreiche Versuche überzeugt habe, $^1/_{60}$ ccm. Selbstverständlich wurde dieser Platinlöffel vor jeder Entnahme frisch ausgeglüht. Diese Erdmenge wurde in verflüssigte Gelatine gelegt und zu Rollculturen verwendet. Aus jedem Cylinder wurden zehn Erdproben genommen und die Ergebnisse der bacteriologischen Untersuchung, in der nebenstehenden Tabelle (S. 307), verzeichnet.

Mit dem Zeichen + bezeichne ich die Anwesenheit, mit dem Zeichen — die Abwesenheit der Typhusbacillen. Von einer Nachzählung der vorhandenen Typhuskeime wurde Abstand genommen, und nur die Anzahl der überhaupt vorhandenen Erdkeime im Durchschnitt angegeben.

Wie aus der Tabelle ersichtlich, waren die eingesäeten Typhusbacillen nach dreimonatlichem Verbleiben im Cylinder I, II und III noch vorhanden. Im Cylinder IV, somit in der Erde die vorher nicht sterilisirt wurde, und öfters mit Wasser besprengt

1) Um Missverständnissen vorzubeugen, erwähne ich hier, dass stets 10% Fleischpeptongelatine und Brutkastentemperatur von 20° C. in Anwendung gebracht wurden, und dass die Anzahl der Keime auf 1 ccm der Erde berechnet wurde.

Tabelle I.

Cylinder Nr.	Tag der Einsaat	Tag der Probeentnahme	Anzahl der Keime überhaupt vor der Einsaat	Anzahl der Keime überhaupt bei der Probeentnahme	Vorhandensein der Typhusbacillen	Anmerkung
I	4./III. 89	4./VI. 89	10	2 965	+	die Erde wurde früher ausgeglüht
II	4./III. 89	4./VI. 89	765 000	600 000	+	die Erde wurde nicht geglüht
III	4./III. 89	4./VI. 89	19	3 940	+	die Erde wurde früher ausgeglüht
IV	4./III. 89	4./VI. 89	800 000	1 000 000	—	die Erde wurde nicht geglüht

war, waren dieselben, trotz wiederholten Untersuchungen und Anfertigung von 21 Rollplatten, gar nicht vorhanden.

Versuch II.

Am 5. März 1889. Dieselbe Erde wie im Versuch I wurde im nicht sterilisirten Zustande in vier Blechcylinder von 20 cm Durchmesser und 40 cm Höhe vertheilt; zwei davon, Cylinder A und C besassen einen siebartigen Boden, auf welchen zur Verhütung des Hinausfallens der Erdpartikelchen ein Blatt Fliesspapier hineingelegt wurde. Sobald die Erde im Cylinder eine Säule von 30 cm ausmachte, wurden auf die nicht gestampfte Oberfläche je 20 ccm einer Typhusbacillenaufschwemmung, die aus sechs schräg erstarrten Gelatineröhrchen hergestellt wurde, aufgegossen, die Stelle mit einem weitmaschigen Messingdrahtnetz markirt, und mit einer 10 cm hohen Schichte ebenfalls ungestampfter Erde bedeckt. Zwei von diesen Cylindern, und zwar die oben erwähnten A und C, wurden je 10 Tage in ein weites 40 cm hohes Glasgefäss hineingestellt, welches mit Wasser bis zu 25 cm Höhe gefüllt war; in diesem verblieb der mit Erde gefüllte Cylinder 1/4 Stunde, und die Menge des durch die Erde aufgesogenen Wassers wurde jedesmal bestimmt. Die gleiche Menge des Wassers wurde am selben Tage auf die im Cylinder B und D befindliche Erde aufgegossen [1]). In jedem Cylinder

1) Die ganze Menge Wassers, welche für Cylinder A und B verbraucht wurde betrug 400 ccm, für Cylinder C und D 800 ccm.

befand sich ein Maximalthermometer. Es handelte sich bei diesem Versuche um Feststellung irgend welcher Unterschiede beim Befeuchten von oben und von unten. Cylinder A und B wurden nach einmonatlicher Dauer des Versuches schichtenweise entleert, und aus der durch Drahtnetz markirten Schichte Erdproben zur bacteriologischen Untersuchung entnommen. Die Cylinder C und D wurden nach zweimonatlicher Dauer des Versuches entleert und ebenfalls untersucht.

Das Maximum der Zimmertemperatur betrug während des Versuches 18,0° C. Die Maximaltemperatur im Cylinder A betrug 18,5° C., Cylinder B 18,4° C., Cylinder C 18,6° C. und Cylinder D 18,4° C.

Die beigegebene Tabelle zeigt die Ergebnisse der bacteriologischen Untersuchung der Proben.

Tabelle II.

Cylinder	Tag der Einsaat	Tag der Probe-entnahme	Anzahl der Keime überhaupt pro 1 ccm Erde		Vorhandensein der Typhusbacillen	Anmerkung
			vor der Einsaat	bei d. Probeentnahme		
A	5./III. 89	5./IV. 89	740 000	1 600 000	+	bewässert von unten
B	5./III.	5./IV.	740 000	1 000 000	+	bewässert von oben
C	5./III.	5./V.	750 000	1 400 000	—	bewässert von unten
D	5./III.	5./V.	730 000	1 300 000	—	bewässert von oben

Als Resultat erhielt ich, dass die Lebensfähigkeit der Typhusbacillen, gleichviel bei welcher Befeuchtungsart, mehr als einen, jedoch stets weniger als zwei Monate dauerte, und aus den Ergebnissen der Versuche I und II erhellt, dass der Feuchtigkeitsgrad hemmend auf die Lebensdauer der Typhusbacillen im Boden einwirkt. Bei den von unten befeuchteten Cylindern war eine bedeutende Zunahme von Erdkeimen überhaupt wahrzunehmen, in denen, glaube ich, die Ursache des rascheren Absterbens der eingeführten Typhuskeime zu suchen.

Versuch III.

Um die Ergebnisse der Grancher-Deschamps'schen Arbeit controliren zu können, habe ich mir einen vollständig dem ihren gleichen Apparat construiren lassen; derselbe war 2,40 m hoch und 17 cm im Durchmesser. Das untere Ende lief konisch zu, daselbst befand sich ein Kautschukpfropfen, durch welchen nöthigenfalls ein Glasröhrchen eingeschoben werden konnte. In der Wand des Cylinders befanden sich, in 20 cm Entfernung, seitlich abgehende Röhrchen, die mit durchbohrten Stöpseln verschlossen waren, durch welche man in das Innere des Cylinders mehrfach durchbrochene dünne Röhrchen hineinstecken konnte. In den Cylinder wurde die gleiche Erde, wie bei früheren Versuchen gegeben, jedoch nicht gestampft, und auf die Oberfläche eine Aufschwemmung von Typhusbacillenculturen aus zwei Gelatineröhrchen in 50 ccm Wasser gegossen. Der ganze Apparat wurde an der Laboratoriumswand aufgehängt und oberhalb derselben ein Irrigator angebracht, aus welchem tropfenweise täglich 450 ccm auf die Oberfläche des Bodens rannen. Die seitlichen Röhrchen wurden verstöpselt, und das durch die untere Oeffnung herauskommende Wasser, welches die ganze Erdsäule passiren musste, in einem unterstellten Recipienten aufgefangen und bacteriologisch untersucht. Dieser Versuch dauerte 1 Monat, und übereinstimmend mit Grancher und Deschamps, konnte ich in so filtrirtem Wasser kein einziges Mal Typhusbacillen nachweisen. Gleichzeitig mit diesem Versuche habe ich durch die Seitenöffnungen des Cylinders vermittelst der durchbrochenen Röhrchen Erdproben aus verschiedenen Tiefen ausgefischt, um mich zu überzeugen, in welche Tiefe der Typhusbacillus durch die Bewässerung der Oberfläche hineindringt. Es ist vielleicht überflüssig, wenn ich bemerke, dass vor dem Versuche, der in den Cylinder gegebene Erdboden bacteriologisch untersucht und ohne Typhusbacillen befunden wurde.

Die ganz oberflächlichsten Bodenschichten enthielten in der zweiten Untersuchungswoche absolut keine Typhusbacillen, dagegen waren dieselben in den Erdproben, die aus der Tiefe von

20, 40 und 60 cm genommen wurden, stets vorhanden. In der Tiefe von 20 und 40 cm waren dieselben viel zahlreicher als an der tieferen Stelle; in der Tiefe von 80 cm waren sie absolut nicht mehr nachweisbar, trotzdem 31 Roll- und Plattenculturen angelegt wurden. Die Ergebnisse dieses Versuches stimmen somit insofern nicht mit denen von Grancher und Deschamps überein, als die französischen Autoren das Hineindringen des Typhusbacillus nur bis 50 cm Tiefe beobachten konnten.

Versuch IV.

In einen Blechcylinder von 17 cm Durchmesser und 40 cm Höhe, wurde nicht sterilisirte Gartenerde, welche, wie die diesbezüglich vorgenommene Untersuchung ergab, 22,02 % Poren enthielt, hineingelegt. In je 10 cm Entfernung vom Boden wurde auf die Erdschichte eine Aufschwemmung von 20 ccm Wasser und drei Pilzrasen aus erstarrten Gelatineröhrchen gegossen. Jede Schichte wurde durch ein weitmaschiges Drahtnetz markirt; somit waren in dem Cylinder vier Schichten, die mit Typhusbacillen inficirt waren, und von denen die oberste ganz oberflächlich lag, vorhanden. Nachdem die Durchschnittsmenge des Regenwassers im Monat Juni = 0 war, wurde der Cylinder gar nicht mit Wasser begossen und durch den ganzen Monat Juni, am schattigen Ort im Freien gelassen. Nach 30 tägigem Stehen wurden aus jeder ursprünglich inficirten Schichte, je 30 Erdproben entnommen, und zu Roll- und Plattenculturen verwendet. Als Ergebnis erhielt ich, dass, während die Typhusbacillen in der obersten Erdschichte absolut nicht mehr nachweisbar waren, und in der 10 cm unterhalb der Oberfläche gelegenen noch spärlich vorhanden waren, in den zwei tieferen Schichten, also 20 und 30 cm unter der Oberfläche, in genügender Menge auf Platten nachweisbar waren.

Versuch V.

Am 1. Juli 1889. Mit der Erde gleicher Provenienz, Beschaffenheit und Porenvolumens, wurde der Versuch IV wiederholt; die Niederschlagsmenge im Monat Juli und August betrug,

auf die Oberfläche des Cylinders berechnet, in Summa 25 mm. Der Cylinder blieb die ganze Zeit am schattigen, jedoch dem atmosphärischen Niederschlag zugänglichen Orte, stehen. Am 31. August wurden Erdproben aus den früher markirten, inficirten Schichten entnommen, und als Resultat erhielt ich, dass die Typhusbacillen an der oberflächlichsten Schichte nicht mehr nachweisbar, in den drei tieferen jedoch regelmässig vorhanden waren.

Versuch VI.

Mit gleicher Erde, wie bei den zwei vorhergegangenen Versuchen, wurde ein 1 m hoher und 20 cm Durchmesser grosser, aus vier abnehmbaren Abtheilungen bestehender Blechcylinder gefüllt. Auf die Erdschichten, die 90, 80, 70, 60 und 50 cm unterhalb der Oberfläche zu liegen kamen, durch ein weitmaschiges Drahtnetz bezeichnet waren, kamen je 20 ccm einer concentrirten, 5 Tage lang bei Bruttemperatur aufgewachsenen Typhusbacillenbouilloncultur. Der Cylinder blieb durch 1 Monat im Freien hängen, und wurde durch den atmosphärischen Niederschlag, welcher im Monate September auf die Oberfläche der Erdsäule berechnet 38 mm betrug, bewässert. Nach Ablauf des Monats wurde der Cylinder vorsichtig auseinander genommen, und die ursprünglich inficirten Erdschichten bacteriologisch untersucht. Zu jeder Untersuchung wurden je 30 Erdproben entnommen, und zu Roll- und Plattenculturen verwendet. Während die Typhusbacillen in der 90 cm unterhalb der Oberfläche gelegenen Schichte, sehr spärlich vorhanden waren, waren dieselben in den Schichten, die 80, 70, 60 und 50 cm unter der Oberfläche lagen, in genügender Menge vorhanden.

Versuch VII.

Aus einem ungemein feinmaschigen Drahtnetz liess ich mir einen Cylinder von 50 cm Höhe und 20 cm Durchmesser anfertigen; die genügende Stärke wurde ihm durch Einschalten von Eisenstäbchen verliehen. Dieser Cylinder wurde unter Vermeidung jedweden Stampfens zuerst bis zur Höhe von 30 cm mit der gleichen Erde, wie bei den drei letzten Versuchen,

angefüllt, dann mit einer Aufschwemmung von 20 ccm Wasser und fünf abgeschabten Pilzrasen von ebenso vielen, schräg erstarrten agarröhrchen, begossen. Die inficirte Schichte wurde durch weitmaschiges Drahtnetz markirt, der Cylinder bis hinauf mit der gleichen Erde, unter Vermeidung jedwedes Stampfens gefüllt; mit einem Deckel aus ebenso feinmaschigem Materiale versehen, und in einem frisch ausgehobenen Stollen im Garten vergraben. Ich muss bemerken, dass der gefüllte Drahtnetzcylinder vollkommen in den Stollen passte, dass somit zwischen den Wänden desselben und den Wänden des Stollens kein freier Raum blieb, oberhalb des Deckels des Cylinders befand sich eine 20 cm hohe Schicht Gartenerde, somit befand sich die inficirte Schicht 40 cm unter der Erde. Da der Versuch in dem regenreichsten Monate, nämlich im October 1889, begonnen wurde, lag mir sehr viel daran zu ermitteln, bis zu welcher Tiefe der atmosphärische Niederschlag unterhalb der Erdoberfläche eindringt. Nach vielen vergeblichen Versuchen überzeugte ich mich, dass das später zu schildernde Verfahren die sichersten Resultate in dieser Hinsicht liefert. Ein Gramm kohlensaures Natrium wird in eine dreifache Lage schwedisches Filtrirpapier eingewickelt, um den kleinen Convolut herum kommt eine Lage frisch bereiteten rothen Reagenzpapiers, das Ganze wird wiederum in Fliesspapier gewickelt und in der Erde vergraben. Dringt der atmosphärische Niederschlag bis zu der Tiefe in der sich jenes Convolut befand, so kann man an der Farbenreaction des ausgegrabenen Reagenzpapieres, die durch den Niederschlag bewirkte Auflösung des Natriums sehen. Selbstverständlich muss man darauf achten, dass die Erde, in welche die Convolute hineingelegt werden, nicht zu feucht ist, da man sonst mit der ursprünglichen Bodenfeuchtigkeit zu rechnen hat. Ich befand mich in so fern in günstigen Verhältnissen, als ich schon 30 cm unter der Erdoberfläche, unter normalen Verhältnissen, d. h. regenlosen Tagen, mit einer vollständig trocknen Erde arbeitete.

In etwa 2 m Entfernung von jenem vergrabenen Erdcylinder, habe ich mir einen frischen Stollen ausheben lassen. In denselben legte ich mit je 10 cm Abstand, die oben besprochenen

Convolute in aufsteigender Folge, so dass sich das unterste 90, das oberste 20 cm unterhalb der Oberfläche des Bodens befand. Ich war dadurch in der Lage zu controliren, ob der atmosphärische Niederschlag bis in die Tiefe in der sich die inficirte Schichte befand, hineindringt. Gleichzeitig mit diesen Versuchen wurden noch die Messungen der Bodentemperatur vorgenommen und der Stand der Maximalthermometer in einem separaten Schachte, je alle 5 Tage abgelesen.

Nach einmonatlicher Dauer wurde der Versuch abgeschlossen. Die Menge des atmosphärischen Niederschlages zwischen 1. bis 31. October betrug auf 1 qm 118 mm. Die Bodentemperaturen verhielten sich nachstehend: Die Monatsmaximaltemperatur in der obersten Erdschichte betrug 15,8° C., 20 cm unter der Oberfläche 15,7° C., 40 cm unter der Oberfläche 15,5° C. und 60 cm unter der Erde 15,3° C. Die ausgehobenen Convolute zeigten bis zur Tiefe von 50 cm die deutliche Reaction an der Reagenzpapierumhüllung, während die tiefer gelegenen keine Reaction zeigten; ein Beweis dafür, dass der atmosphärische Niederschlag in dem regenreichsten Monat, nur bis zu jener Tiefe herunter zu dringen vermochte.

Nun wurde der Drahtnetzcylinder ausgegraben, aus den Stollen herausgenommen und aus der inficirten Schicht, wie auch 2 cm unterhalb derselben, Proben zur bacteriologischen Untersuchung entnommen. Sowohl in der ursprünglich inficirten Schicht wie auch 2 cm unter ihr, liessen sich spärliche Colonien unzweifelhafter Typhusbacillen auf den Platten nachweisen.

Versuch VIII.

Derselbe Drahtnetzcylinder wurde mechanisch sorgfältig gereinigt, und durch drei auf einander folgende Tage im Wasserdampf bei Temperatur 100° C. je eine Stunde sterilisirt. Er wurde dann mit ausgehobener frischer Gartenerde von durchschnittlicher Korngrösse 1,4 mm bis zu 30 cm Höhe gefüllt, mit gleich grosser Menge Typhusbacillenaufschwemmung wie bei Versuch VII inficirt, diese Schichte markirt und in einen frisch ausgehobenen Stollen auf die Weise vergraben, dass die mit

Typhusbacillen besäete Erdlage 50 cm unter dem Erdboden zu liegen kam. In einem zweiten Schachte habe ich die oben besprochenen Convolute behufs Feststellung der Tiefe zu welcher der Niederschlag jedesmal drang, aufbewahrt, und spätestens 6 Stunden nach Aufhören eines jeden Regens, ausgegraben, durch frische ersetzt und der ausgehobene Erdetrichter wurde 1 Stunde im Trockenschrank bei 80° C. gut getrocknet. Gleichzeitig wurde alle 5 Tage die Maximaltemperatur in der Tiefe des Bodens von 50 cm abgelesen und nebst der gleichzeitigen Lufttemperatur notirt. Der Versuch dauerte den ganzen Monat November und December hindurch. Die beigegebene Tabelle zeigt die abgelesenen 5 tägigen Maxima der Boden- und Lufttemperatur, und die jedesmal aufgefundenen Tiefen, bis zu welchen der atmosphärische Niederschlag drang.

Tabelle III.

Datum	Maximum der Lufttemperatur 1 h. p. m.	Maximum der Bodentemperatur in 50 cm Tiefe 1 h. p. m.	Tag des Niederschlages	Menge des Niederschlages pro qm in mm	Grösste Tiefe bis zu welcher der Niederschlag gedrungen
					m
1./XI.	15,3	13,5	2./XI.	3,1	0,10
5./XI.	15,3	13,4			
10./XI.	15,6	13,0	11./XI.	5,8	0,10
15./XI.	19,4	13,0			
20./XI.	17,3	13,0	24./XI.	11,4	0,10
25./XI.	16,1	13,3	26./XI.	24,6	0,20
30./XI.	16,0	13,0	1./XII.	27,1	0,50
4./XII.	11,9	10,9	6./XII.	12,5	0,10
9./XII.	8,4	10,5	7./XII.	12,5	0,10
14./XII.	8,0	10,4	14./XII.	10,4	0,10
19./XII.	8,5	10,4	17./XII.	27,4	0,60
24./XII.	8,6	10,3	24./XII.	25,1	0,40
29./XII.	7,4	10,2	30./XII.	10,0	0,20
31./XII.	6,0	10,3			

Am 31. December 1889 wurde der Drahtnetzcylinder ausgehoben und auf das Vorhandensein der ursprünglich eingesäeten Typhusbacillen geprüft. Dieselben liessen sich nachweisen, obwohl die Menge der Typhusbacillencolonien auf den diesbezüglichen Platten eine sehr spärliche war.

Versuch IX.

Der oben besprochene Drahtnetzcylinder wurde nach gründlicher Sterilisirung im Wasserdampf mit gewöhnlicher Erde von nachstehender Korngrösse nachgefüllt. Es befanden sich in einem Kilogramm Erde 3% von 7 mm Korngrösse, 11% von 4 mm, 20% von 2 mm, 30% von 1 mm und 34% von 0,6 mm. Diesmal wurde er so vergraben, dass die ebenso wie bei Versuch VIII inficirte Schichte 5 cm unter der Erdoberfläche zu liegen kam; dieselbe wurde wie bei früheren Versuchen markirt. Die Messungen der Temperatur und der Tiefe bis zu welcher der jedesmalige atmosphärische Niederschlag drang, wurde auf gleiche Art wie bei früheren Versuchen vorgenommen und ist aus der nebenstehenden Tabelle ersichtlich.

Tabelle IV.

Datum	Maximum der Luft-temperatur	Maximum der Boden-temperatur 0,05 m Tiefe	Tag des Niederschlages	Menge des Niederschlages pro qm in mm	Grösste Tiefe bis zu welcher der Niederschlag gedrungen
					cm
1./III.	10,6	9,6			
5./III.	16,3	9,6	4./III.	10,4	10
10./III.	17,4	10,8			
15./III.	15,3	10,9			
20./III.	20,4	11,2	17./III.	22,6	20
25./III.	20,6	11,6			
30./III.	20,7	11,8			
4./IV.	16,3	11,8	3./IV.	28,4	20
9./IV.	17,6	12,0			
14./IV.	20,0	12,3	13./IV.	23,6	20
19./IV.	19,6	12,4	17./IV.	29,5	30
24./IV.	19,6	12,6			
29./IV.	23,4	13,9	25./IV.	30,1	30
1./V.	19,6	16,4			

Der Versuch dauerte den ganzen Monat März und April 1890. Am 30. April wurde die ursprünglich inficirte Schichte abgedeckt und trotzdem sowohl aus ihr wie auch aus den darunter liegenden Schichten bis zu 5 cm Tiefe im Ganzen 100 Proben entnommen wurden, waren absolut keine Typhusbacillen zu finden.

Ich muss bemerken, dass die Anzahl der gefundenen Erdkeime eine sehr grosse war, ich fand auf 1 ccm berechnet 14 000 000 Keime, darunter sehr viele von entschiedenem Proteusaussehen; ferner, dass der Boden in dem dieser Versuch angestellt wurde ein ehemaliger Gemüsegarten war.

Um mich zu überzeugen ob die Ergebnisse der Untersuchung mit Reinculturen des Typhusbacillus sich auf sonstige Verhältnisse übertragen lassen, habe ich eine zweite Reihe von Versuchen mit typhusbacillenhaltigem Kothe Typhuskranker angestellt, die zugleich als Controle der früheren Reihe und deren Ergänzung dienen sollten.

Versuch X.

100 ccm eines flüssigen, erbsenartigen Stuhles eines im 14. Tage befindlichen Typhuspatienten, in welchem die Anwesenheit der Typhusbacillen durch Plattenculturen festgestellt worden war, wurden zu folgendem Versuch verwendet: Ziemlich feine Gartenerde von nachstehender Korngrösse: 0,5 % von 2 mm Korngrösse, 1,5 % von 1,25 mm, 40 % von 1 mm, 30 % von 0,5 mm und 25 % von 0,3 mm, wurde in einer Eisenröhre durch drei nacheinander folgende Tage je 2 Stunden ausgeglüht, um sie möglichst keimfrei zu machen. Dieselbe wurde in einen, durch Wasserdampf sterilisirten Glascylinder geschüttet, und nachdem dieselbe ⅔ der Höhe des Cylinders ausmachte, mit 100 ccm oben besprochenen Stuhles begossen, und mit einer 15 cm hohen Schichte derselben Erde bedeckt, und unter mässigen, mittelst einer ebenfalls sterilen Metallscheibe ausgeübtem Drucke, gestampft. Die inficirte Erdschichte wurde durch ein feinmaschiges Messingdrahtnetz markirt, durch welches ein Maximalthermometer eingestochen wurde. Der Cylinder verblieb in Zimmertemperatur (14—18 ° C.), durch 3 Monate (März bis Ende Mai). Die Oberfläche der Erde wurde gar nicht bewässert. Als Ergebnis erhielt ich, dass die Maximumtemperatur in der inficirten Erdschichte 26,4° C. ausmachte, dass in der inficirten Erdschichte nach 3 Monaten 1 800 000 Keime pro Cubikcentimeter

der Erde vorhanden waren, und dass die Typhusbacillen sowohl in dieser Schichte, wie auch einige Centimeter unter ihr mit aller Sicherheit nachzuweisen waren.

Versuch XI.

Gleiche Erde wie zum soeben beschriebenen Versuche wurde in ebenso sterilisirtem Zustande mit gleicher Menge desselben Typhusstuhles inficirt und in ebenso grossem Glascylinder aufgehoben, und während im Versuch X die Oberfläche der so aufbewahrten Erde gar nicht bewässert war, wurde sie hier je alle 10 Tage mit je 10 ccm sterilisirten, destillirten Wassers begossen. Die Aufbewahrung geschah in Zimmertemperatur, der Versuch dauerte aus äusseren Gründen 50 Tage. Die Maximaltemperatur in der inficirten Erdschichte betrug in dieser Zeit 28,5° C. Die Anzahl der Keime in der inficirten Schichte betrug 2 000 000 pro Cubikcentimeter Erde; die Typhusbacillen liessen sich gar nicht nachweisen, obwohl 60 Erdproben zu ebenso vielen Roll- und Plattenculturen verwendet wurden.

Versuch XII.

Die soeben besprochenen zwei letzten Versuche wurden mit der gleichen, jedoch nicht sterilisirten Erde wiederholt; die Lebensdauer der Typhusbacillen in der Erde die gar nicht bewässert wurde, dauerte 1 Monat, wenigstens konnten dieselben bei Unterbrechung des Versuches nach 30 Tagen noch gefunden werden, in der bewässerten nicht sterilisirten Erde konnten dieselben nach 30 Tagen nicht mehr nachgewiesen werden. Die Maximaltemperatur in dem nicht bewässerten Boden betrug 28,5° C., die Keimzahl 2 000 000 pro 1 ccm Erde. In der bewässerten Erde 30,2° C. (gegen 18,4° C. als Maximaltemperatur des Zimmers), die Anzahl der Keime 2 600 000 pro 1 ccm Erde.

Versuch XIII.

Die gleiche Erde wie beim letzterwähnten Versuche wurde im nicht sterilisirten Zustande in vier Blechcylinder von 20 ccm Durchmesser und 40 cm Höhe vertheilt; zwei davon, Cylinder A

und C besassen einen siebartigen Boden auf welchen zur Verhütung des Hinausfallens der Erdpartikelchen ein Blatt Fliesspapier eingelegt wurde. Sobald die Erde im Cylinder eine Säule von 30 cm ausmachte, wurden auf die nicht gestampfte Oberfläche je 100 ccm eines typhusbacillenhaltigen Stuhles eines im 15. Krankheitstage befindlichen Patienten aufgegossen, die Stelle mit einem weitmaschigen Messingdrahtnetz markirt und mit einer 10 cm hohen Schichte ebenfalls ungestampfter Erde bedeckt. Die Cylinder A und C wurden je alle 10 Tage in ein weites 40 cm hohes Glasgefäss gestellt, welches mit Wasser bis zu 25 cm Höhe gefüllt war. In diesem verblieb der mit Erde gefüllte Cylinder ¼ Stunde, und die Menge des durch die Erde aufgesogenen Wassers wurde jedesmal bestimmt, und die gleiche Menge des Wassers am selben Tage auf die Obfläche der im Cylinder B und D befindlichen Erde aufgegossen. Die ganze Menge des für jeden Cylinder verbrauchten Wassers betrug für die Cylinder A und B 400 ccm für die Cylinder C und D 800 ccm. In jedem Cylinder befand sich ein Maximalthermometer. Es handelte sich bei diesem Versuche um Feststellung irgend welcher Unterschiede beim Befeuchten von oben und von unten. Cylinder A und B wurden nach 1 monatlicher Dauer des Versuches schichtenweise entleert, und aus der durch Drahtnetz markirten Schichte Erdproben zu bacteriologischen Untersuchungen entnommen. Die Cylinder C und D wurden nach 2 monatlicher Dauer entleert und ebenfalls untersucht.

Das Maximum der Zimmertemperatur betrug 18,0° C., die Maximaltemperatur im Cylinder A betrug 28,5° C., im Cylinder B 28,4° C., im Cylinder C 29,0° C. und im Cylinder D 29,1° C.

Die Tabelle V (S. 319) zeigt die Ergebnisse der bacteriologischen Untersuchung der Proben.

Als Ergebnis erhielt ich somit, dass die mit Koth zugeführten Typhusbacillen, nach Ablauf eines Monats zu Grunde gegangen sind. Die stärkere Bewässerung der Erdproben hatte zur Folge, dass der Keimgehalt ungemein hoch gestiegen ist, wozu selbstverständlich auch die zugeführten Kothbacterien beigetragen haben.

Tabelle V.

Cylinder	Tag der Einsaat	Tag der Probe-entnahme	Anzahl der Keime überhaupt in 1 ccm Erde		Vorhandensein der Typhusbacillen	Anmerkung
			vor der Einsaat	bei d. Probe-entnahme		
A	4./IV. 90	4./V. 90	800 000	1 800 000	+	bewässert von unten
B	4./IV. 90	4./V. 90	800 000	1 000 000	+	bewässert von oben
C	4./IV. 90	4./VI. 90	790 000	1 600 000	—	bewässert von unten
D	4./IV. 90	4./VI. 90	740 000	1 100 000	—	bewässert von oben

Versuch XIV.

Der Versuch III mit dem Grancher und Deschamps'-schen Apparate wurde, unter Beibehaltung derselben Modalitäten wie sie oben beschrieben, wiederholt, mit dem einzigen Unterschiede, dass statt der Typhusbacillenaufschwemmung 100 ccm typhusbacillenhaltigen Fäces gleicher Provenienz wie bisher, auf die Oberfläche der Erdsäule gegossen wurden.

Als Resultat erhielt ich, dass in dem durch die Erdsäule filtrirten Wasser, niemals Typhusbacillen vorhanden waren. Da gleichzeitig mit diesem Versuche durch die Seitenöffnungen des Cylinders vermittelst durchbrochener Röhrchen Erdproben aus verschiedenen Tiefen ausgehoben und bacteriologisch untersucht wurden, konnte ich mich überzeugen, dass durch die Bewässerung von oben, die Typhusbacillen noch in der dritten Untersuchungswoche in den Erdschichten von 20, 40 und 60 cm vorhanden waren. In 80 cm Tiefe waren dieselben nicht mehr vorhanden. In der oberflächlichsten Erdschichte waren dieselben am 25. Beobachtungstage nicht mehr nachweisbar, und da der Versuch durch genau 100 Tage fortgesetzt wurde, konnte ich mich überzeugen, dass die Lebensfähigkeit derselben 90 Tage nicht überschritt. In der Tiefe von 20 cm waren dieselben bereits nach 45 Tagen nicht mehr nachweisbar, während sie noch in der Tiefe von 40 und 60 cm auf den Platten unzweifelhaft vorkamen. Es ist wohl überflüssig wenn ich hinzufüge, dass

der Blechcylinder vor dem Versuche gehörig sterilisirt war, dass die Typhusbacillen vor dem Versuche weder in dem Bewässerungswasser noch in der Erde vorhanden waren, und dass zur Bewässerung ein Brunnenwasser in dem trotz oftmalig vorgenommener Untersuchung nie Typhusbacillen gefunden wurden, verwendet wurde.

Versuch XV.

In einen Blechcylinder von 17 cm Durchmesser und 40 cm Höhe wurde die gleiche wie zum Versuch XIV verwendete Erde, die durch 3 Tage in einer Eisenröhre geglüht wurde, auf die Weise eingeschüttet, dass auf je 10 cm hohe Erdschichte, 20 ccm typhusbacillenhaltiger Fäces aufgegossen wurden. Die inficirten Schichten wurden durch feinmaschiges Drahtnetz markirt. Die oberste inficirte Schichte war somit direct der Luft ausgesetzt; die zweite befand sich 10 cm unter ihr. Dieser Cylinder wurde im Freien aufgestellt, und die ganze Menge des atmosphärischen Niederschlages, auf die Oberfläche der Erdsäule berechnet, betrug im Monat Juni 1890 17 mm.

Dieser Versuch wurde gleichzeitig mit nicht sterilisirter Erde wiederholt. Als Ergebnis erhielt ich, dass nach einem Monat in dem mit sterilisirter Erde gefüllten Cylinder, die Typhusbacillen nur in der Schichte, die 30 cm tief lag, vorhanden waren. In dem zweiten Cylinder waren die Typhusbacillen auch nur in dieser Schichte vorhanden, ihre Anzahl war jedoch eine ungemein geringe, da auf Platten, die mit 30 verschiedenen Erdproben beschickt waren, im Ganzen nur 16 Colonien unzweifelhafter Typhusbacillen aufgefunden wurden.

Versuch XVI.

In einem jungfräulichen Boden habe ich mir einen Schacht von 50 cm Tiefe und 30 cm Breite ausheben lassen. Die Ecken des senkrechten Stollens habe ich mir durch eingelegte Glasstäbe markirt. Auf den Boden des Stollens goss ich 700 ccm eines typhusbacillenhaltigen Kothes und bedeckte ihn mit der ganzen ausgehobenen Erde, unter mässigem Druck. Vom Beginn des Versuches wurden die regelmässigen Messungen der

Bodentemperatur vorgenommen, wie auch auf die oben besprochene Weise nach jedem Regen die Tiefen bis zu welchen der atmosphärische Niederschlag drang, bestimmt.

In einem zweiten, ebenso beschaffenen, doch 70 cm tiefen Schachte, habe ich 400 ccm, in einem dritten in 30 cm Tiefe 500 ccm derselben Fäces vergraben. Nach einmonatlicher Dauer des Versuches habe ich mittelst eines jedesmal frisch ausgeglühten Fränkel'schen Erdbohrers Erdproben aus jenen Tiefen, in denen die Fäces begraben waren, herausgehoben und zur bacteriologischen Untersuchung verwendet. Ich beschränkte mich nie auf nur eine Bohrung, es wurden jedesmal wenigstens fünf Bohrungen vorgenommen, und Proben, sowohl von der ursprünglichen Schichte, wie auch aus deren nächster oberen und unteren Umgebung herausgeholt.

In der nachstehenden Tabelle habe ich die Bodentemperaturen und die jedesmal abgelesenen Tiefen, bis zu welchen der atmosphärische Niederschlag drang, und dessen Menge, verzeichnet.

Tabelle VI.

Datum	Bodentemperatur in der Tiefe von			Tag des Niederschlages	Menge des Niederschlages pro qm in mm	Tiefe bis zu welcher der Niederschlag drang	Anmerkung
	30 cm	50 cm	70 cm			m	
1./V. 90	14,4	14,8	13,8				
5./V.	14,1	14,5	13,8	5./V.	10	0,10	
10./V.	14,0	13,9	13,6				
15./V.	14,0	13,9	13,7	14./V.	25	0,20	
20./V.	15,0	14,6	14,2				
23./V.	15,1	14,9	14,2				
25./V.	15,3	14,9	14,3	24./V.	10	0,10	
27./V.	15,4	15,0	14,4	26./V.	30	0,40	starker Gewitterregen
29./V.	15,3	15,0	14,4	28./V.	45	0,60	starker Gewitterregen
30./V.	15,6	15,1	14,5	30./V.	9	0.10	
31./V.	15,8	15,3	14,6				

Als Ergebnis der bacteriologischen Untersuchung erhielt ich, dass in der Tiefe von 30 cm absolut keine Typhusbacillen

nachgewiesen werden konnten. Sie wurden jedoch in der Tiefe von 50 und 60 cm vorgefunden.

Da durch die angestellte Bohrung die Configuration der Schachte nicht beeinträchtigt war, habe ich sie auch belassen. Der 30 cm tiefe Schacht wurde von frischem abgedeckt mit 600 ccm typhusbacillenhaltigen Fäces eines in dritter Woche befindlichen Patienten inficirt.

Nachdem der Versuch durch einen weiteren Monat fortgesetzt worden war, holte ich mir frische Erdproben mittelst des Fränkel'schen Bohrers, und erhielt als Resultat, dass nur in 30 cm Tiefe, die Typhusbacillen zu finden waren. In den beiden tiefern Schachten waren dieselben nicht mehr zu finden.

Ich muss bemerken, dass die Tiefe der Erdkruste, durch welche in diesem Terrain der Fränkel'sche Erdbohrer hineinzudringen vermochte, 1,25 cm betrug. Dieser Kruste folgte eine für den Bohrer undurchdringliche Schichte des herzegovinischen Kalkurgesteines. Auf mehr als 600 Schritte Entfernung von der Stelle, wo ich meine Versuche anstellte, befand sich keine Wasserader oder Quelle, und die Wiese befand sich genau 15 m oberhalb des Niveaus der Bregava, somit 61 m oberhalb der Adria.

Die beigegebene Tabelle zeigt die Temperatur- und Niederschlagsverhältnisse bei Fortsetzung des Versuches.

Tabelle VII.

Datum	Bodentemperatur in der Tiefe von			Tag des Niederschlages	Menge des Niederschlages pro qm in mm	Tiefe bis zu welcher der Niederschlag drang	Anmerkung
	30 cm	50 cm	70 cm			m	
1./VI. 90	15,9	15,4	14,6				
4./VI.	16,2	15,6	14,7				
7./VI.	16,4	15,9	15,2	6./VI.	25	0,20	
10./VI.	16,4	15,9	15,2				
15./VI.	17,1	15,9	15,2	14./VI.	20	0,20	
20./VI.	17,3	15,9	15,3				
23./VI.	17,5	16,4	15,5				
25./VI.	17,4	16,3	15,3	25./VI.	40	0,60	starker Gewitterregen
27./VI.	17,1	16,1	15,6				
30./VI.	17,5	16,3	15,9				

Versuch XVII.

An vier verschiedenen Stellen der oben erwähnten Wiese habe ich den Rasen abgehoben und die Erde so tief ausgegraben, dass vier viereckige 20 cm tiefe Schachte entstanden. In diese goss ich je 300 ccm typhöser Fäces eines im 13. Krankheitstage befindlichen Patienten und schüttete dieselben mit frischer Gartenerde zu, indem ich die Oberfläche ziemlich fest einstampfte. Die Messung der Bodentemperatur und der Tiefe bis zu welcher der Niederschlag drang, geschah auf oben besprochene Weise. Der Versuch wurde am 15. Juli 1890 begonnen. In 10tägigen Zeitabschnitten wurden die Schachte nacheinander abgedeckt, und aus dem Grunde derselben Proben zur bacteriologischen Untersuchung entnommen. Als Resultat erhielt ich, dass in dieser Tiefe die Lebensdauer der eingesäeten Typhusbacillen nur 20 Tage betrug, da in den Schachten Nr. 3 und 4, die am 30. resp. 40. Tage nach der Einsaat eröffnet wurden, trotz sehr zahlreichen Proben, absolut keine Typhusbacillencolonien auf den Platten aufwuchsen.

Versuch XVIII.

Gleichzeitig mit dem oben besprochenen Versuche habe ich den früheren insofern modificirt, als ich den ursprünglich abgenommenen Rasen wiederum einsetzte, um mich zu überzeugen, ob das Bewachsensein der Oberfläche irgend welchen Einfluss auf die Lebensdauer der eingesäeten Typhusbacillen habe. Die Tabelle VIII (S. 324) zeigt die Temperaturverhältnisse des Bodens, und die Tiefe bis zu welcher der Niederschlag drang.

Als Resultat erhielt ich, dass die Typhusbacillen ebenfalls nur 20 Tage ihre Lebensdauer behielten.

Da mir schien, dass die dichten Rasenwurzeln, die erfahrungsgemäss jedwede Feuchtigkeit ungemein rasch aufsaugen, die Exactheit des Versuches beeinträchtigen, habe ich noch eine Modification des Versuches XVIII angewendet, indem ich mir zwei frische Schachte aushob, in 20 cm Tiefe je 400 ccm typhösen Fäces in denen die Typhusbacillen sehr zahlreich vorhanden waren, begrub, die mässig gestampfte Oberfläche mit je 200 ccm

Tabelle VIII.

Datum	Luft-temperatur	Boden-temperatur in 0,20 cm Tiefe	Tag des Niederschlages	Menge des Niederschlages pro qm in mm	Tiefe bis zu welcher der Niederschlag drang	Anmerkung
					cm	
1./VII. 90	25,6	20,4				
5./VII.	26,6	20,5				
10./VII.	27,0	20,8				
15./VII.	30,0	21,0				
18./VII.	30,0	21,0	18./VII.	43	40	starker Gewitterregen
20./VII.	29,6	20,6				
25./VII.	29,4	20,0				
30./VII.	30,4	22,3				
4./VIII.	30,4	22,5				
9./VIII.	30,6	22,3				
12./VIII.	30,2	24,1				
15./VIII.	30,4	25,1				
17./VIII.	27,3	24,6				
20./VIII.	29,4	23,4	20./VIII.	20	20	
25./VIII.	30,5	23,5				
27./VIII.	34,5	23,2				
30./VIII.	35,1	25,1				

Brunnenwasser begoss, und während an einem Schachte die Oberfläche unbewachsen blieb, besäete ich die Oberfläche des andern mit einer ungemein schnell wachsenden Kressenart, die bereits nach 4 Tagen aufging, und nach 13 Tagen Pflänzchen von 10 cm Höhe lieferte. Nach 20 Tagen wurden beide Schachte abgedeckt. In dem Schachte, dessen Obsrfläche nicht besäet war, waren die Typhusbacillen im Boden vorhanden, sie fehlten jedoch vollständig in dem besäeten Schachte, obwohl hier nicht nur Erdproben aus dem Grunde des Schachtes, sondern auch Erdklümpchen, die an den Wurzeln der Kresse hafteten, zur Untersuchung verwendet wurden. Auf 62 Roll- und Plattenculturen erhielt ich kein einziges Mal eine Colonie, die mit den Colonien des Eberth-Gaffky'schen Bacillus identificirt werden könnte.

Versuch XIX.

Am 14. März 1890 starb im kais. und kgl. Truppenspital zu Stolač der in der 3. Woche des typisch verlaufenden Abdominal-

typhus sich befindende Infanterist R. S. Bei der 9 Stunden nach dem Tode vorgenommenen Obduction wurde die etwa dreifach vergrösserte Milz ohne sichtbare Verletzung der Kapsel herausgenommen. Nachdem dieselbe durch 4 Stunden in $^2/_{1000}$ Sublimatlösung gelegen hatte, wurde aus ihr mittelst einer sterilen Spritze 1 ccm der breiigen Pulpa aufgesogen, dann mittelst eines sterilen Messers ein kleiner Einschnitt gemacht, und ein genaues Thermometer hineingelegt. Nachdem dasselbe im Innern der Milz eine Viertelstunde gelegen hatte, und 10,6° C. (gegen 14,5° C. der Obductionskammer) anzeigte, wurde das Thermometer durch ein genaues mit Normalthermometer verglichenes Maximalthermometer ersetzt, dasselbe bis unter die Kapsel hineingestochen, die Milz in Fliesspapier eingewickelt und in einen frisch ausgehobenen Schacht in der Tiefe von 96 cm gelegt. 26 cm von der Milz wurde ein zweites genaues Maximalthermometer, welches mit dem sich in der Milz befindenden auf gleiche Temperatur eingestellt war, vergraben, der Schacht mit Erde zugeschüttet und oben festgestampft. Genau 3 Monate später, also am 14. Juni 1890, wurde der Schacht von frischem ausgehoben, in dem Papierconvolut, welches sorgfältig herausgenommen ward, wurde in einer breiigen, dunkelbraunen, übelriechenden Masse das unversehrte Thermometer aufgefunden, dasselbe zeigte 39,6° C., das zweite Thermometer, welches ebenfalls unversehrt aufgefunden wurde, zeigte 15,1° C. Nachdem die am 10. Juni abgelesene Temperatur des Bodens ebenfalls 15,0° C. zeigte, kam es innerhalb der faulenden Milzmasse zu einer Temperatursteigerung von 24,1° C.

Um mich zu überzeugen, ob nach dreimonatlichem Verbleib in der Erde die Typhusbacillen die in der Milz wie dies die Plattenculturen aus der mittelst Spritze am 14. März herausgenommenen Milzpulpa bewiesen, in derselben reichlich vertreten waren, noch lebensfähig sind, entnahm ich 1 ccm der breiigen Masse, und vermengte sie mit 100 ccm sterilen destillirten Wassers. Nachdem diese Mischung gehörig geschüttelt war, wurde mittelst einer graduirten Pipette 0,01 ccm entnommen, und mit Gelatine gemengt. Das so inficirte Gläschen wurde zu drei

Plattenculturen verwendet, und im Thermostaten bei 18° C. aufbewahrt. Auf gleiche Weise habe ich in diesem Versuche 21 Plattenculturen angefertigt; auf diesen 21 Platten entwickelten sich verhältnismässig wenig Colonien, freilich gehörte die Mehrzahl den verflüssigenden Arten an; bis zum 5. Tage verlor ich keine einzige dieser Platten durch Verflüssigung, und unter den vielen Colonien fand ich 17, die makroskopisch und mikroskopisch denen des Typhusbacillus gleichen. Dieselben wurden auf Kartoffelscheiben überimpft, und erwiesen sich als unzweifelhaft echte Typhuscolonien; somit vermochten die Typhusbacillen durch so lange Zeit der Einwirkung der Fäulnismikroorganismen Stand zu halten.

Ich muss ausdrücklich hervorheben, dass ich unter den sechs verschiedenen Mikroorganismen, die in verschieden grosser Anzahl von Colonien vertreten waren, die Proteusarten gänzlich vermisste.

Versuch XX.

Am 25. März 1890 hatte ich Gelegenheit wiederum eine Section, eines am 9. Krankheitstage verstorbenen Typhuskranken auszuführen. Bei demselben fand ich neben beginnender Ulceration im Darme, einen colossalen Milztumor und fibrinöse Pneumonie der ganzen rechten Lunge im Stadium der gelben Hepatisation. Ich nahm die Milz ohne Verletzung der Kapsel, hielt sie eine Viertelstunde in Sublimatlösung, nachher, nach Entnahme einer kleinen Partie der Milzpulpa, mittelst steriler Spritze, wurde in die Kapsel ein kleiner Einschnitt gemacht, und ein auf 10° C. gestelltes Maximalthermometer eingesetzt. Die ganze Milz wurde in eine dicke Lage Fliesspapier, welches in Sublimat getränkt war, eingewickelt und ausserdem in einen ebenfalls stark mit Sublimat getränkten Leinwandsack und in eine Pappschachtel gethan, und auf oben besprochene Weise in einer Tiefe von 96 cm vergraben. Ein Controlthermometer, welches ebenfalls 10° C. vorzeigte, wurde in einer Entfernung von 30 cm in der gleichen Tiefe untergebracht.

Am 25. Juni wurde die Schachtel in der sich die Milz befand, ausgegraben, und daselbst das Thermometer, welches 29,4° C.

anzeigte, in der breiigen Masse vorgefunden. Die Verwesung der Milz war im Verhältnis zu der im Versuche XX eine bedeutend geringere, Stücke der Milzkapsel waren deutlich zu erkennen, ebenso die Milzvenen. In dieser Milz kam es zu einer Temperatursteigerung von 14° C. gegenüber der Bodentemperatur.

Die breiige Masse wurde unter Anwendung entsprechender Verdünnung zu Platten- und Rollculturen verwendet; ich erhielt im Ganzen vier aërob und zwei anaërob wachsende Stäbchenarten. Der Typhusbacillus wurde unzweifelhaft, jedoch in sehr geringer Anzahl von Colonien, vorgefunden. Keiner der gefundenen Mikroorganismen verursachte die Verflüssigung der Gelatine.

Ich glaube annehmen zu müssen, dass die Verpackung in sublimatgetränktes Fliesspapier und in Leinwand, einen ziemlich ausreichenden Schutz gegen das Eindringen der Bodenmikroorganismen bildete.

Versuch XXI.

Die Milz eines am 25. April Verstorbenen, und obducirten Patienten, der dem typischen Abdominaltyphus in der zweiten Woche erlag, und die, wie dies Platten aus dem Milzsafte bewiesen, sehr viele Typhusbacillen enthielt, wurde ohne besondere Vorsichtsmaassregeln mit einem Maximalthermometer in einer Holzschachtel in der Tiefe von 98 cm vergraben. Dieselbe wurde nach einem Monat ausgegraben, wobei die Milz total verfault, und das Maximalthermometer 36,6° C. anzeigend, vorgefunden wurde.

Diesmal gelang es mir nicht die specifischen Typhusbacillen aus der faulenden Flüssigkeit herauszuzüchten. Die schnell verflüssigenden Proteusarten waren in überwiegender Mehrzahl von Colonien repräsentirt.

Die nachfolgende Tabelle zeigt das Verhalten der Lufttemperatur, das Verhalten des Bodens bei 1 m Tiefe, die Menge des Niederschlages und die Tiefe bis zu der er drang.

Tabelle IX.

Datum	Luft-temperatur	Boden-temperatur in 1 m Tiefe	Tag des Niederschlages	Menge des Niederschlages pro qm in mm	Tiefe bis zu welcher der Niederschlag drang
					cm
1./III 90	10,6	8,2			
5./III.	16,3	9,6	4./III.	10,4	10
10./III.	17,4	9,8			
15./III.	15,3	9,8			
20./III.	20,4	10,6	17./III.	22,6	20
25./III.	20,6	10,8			
30./III.	20,7	10,8			
1./IV. 90	17,4	10,8			
5./IV.	16,3	10,0	3./IV.	28,4	20
10./IV.	17,8	11,2			
15./IV.	20,0	11,4	14./IV.	23,6	20
20./IV.	19,6	11,6	17./IV.	29,5	30
25./IV.	19,9	11,9	25./IV.	30,0	30
30./IV.	23,4	12,6			
1./V. 90	19,6	13,6			
5./V.	20,4	13,8	5./V.	10	10
10./V.	23,2	13,4			
15./V.	24,1	13,2	14./V.	25	20
20./V.	24,6	13,9	24./V.	10	10
25./V.	25,6	14,2	26. u. 28./V.	30 + 45	40 + 60
30./V.	23,2	14,6	30./V.	9	10
1./VI 90	26,1	14,3			
5./VI.	25,0	15,0			
10./VI.	27,0	15,0	6./VI.	25	20
15./VI.	27,1	15,0	14./VI.	20	20
20./VI.	26,3	15,0			
25./VI.	26,4	15,4	25./VI.	40	60
30./VI.	27,1	15,7			
1./VII. 90	25,6	16,1			
5./VII.	26,6	16,2			
10./VII.	27,0	16,2			
15./VII.	30,0	16,4	18./VII.	43	40
20./VII.	29,6	16,6			
25./VII.	29,4	16,7			
30./VII.	30,6	16,8			

Die Gegend, in der ich die oberwähnten Versuche anstellte, liess die Berücksichtigung des Einflusses, welchen der Stand und die Bewegung des Grundwassers auf die Lebensfähigkeit der im Boden eingesäeten Typhusbacillen ausübt, nicht zu. Die von militärischer Seite in der Umgebung von Stolač vielmals vorgenommenen Bohrungen lieferten nur ein einziges Mal Wasser; auf diese Weise entstand der einzige Brunnen in Stolač, der sogenannte Spitalsbrunnen, welcher erst bei 12 m Tiefe Wasser lieferte, welches eigentlich als Sickerwasser aus dem benachbarten Bregavafluss anzusehen war. Diesen stark in Anspruch genommenen und während der Sommermonate meist gänzlich versagenden Brunnen, konnte ich zur Messung des Wasserstandes gar nicht verwenden.

Um aber wenigstens den Einfluss der wechselnden Bodenfeuchtigkeit auf die Lebensdauer der Typhusbacillen studieren zu können, habe ich folgenden Versuch angestellt.

Versuch XXII.

Am flachen Flussufer unterhalb der Stadt Stolač, habe ich mir einen Schacht von 1 m Tiefe und 40 cm Durchmesser graben lassen. Bei 80 cm Tiefe stiess ich bereits auf Wasser, und so konnte ich an der in den Schacht eingesenkten, getheilten Leiste, die Schwankungen im Niveau des Wassers bemessen. Durch dreiwöchentliche Beobachtungen constatirte ich, dass diese Schwankungen vollständig denen des Flussniveaus, die am entsprechenden Pegel gemessen waren, entsprachen. In der Entfernung von 2 m von diesem Schachte, habe ich einen zweiten ausgehoben, der jedoch nur 75 cm Tiefe hatte, und 20 cm im Durchmesser maass. In denselben versenkte ich einen Drahtnetzcylinder von 70 cm Höhe, welcher inwendig zur Verhütung des Ausfallens der Erdpartikel, mit Fliesspapier ausgekleidet war, schüttete in denselben dieselbe Erde, aus der das Flussufer bestand, und nachdem die Schichte derselben 10 cm hoch war, begoss ich sie mit 100 ccm typhusbacillenhaltigen Fäces, und füllte den 50 cm hohen Cylinder vollends mit der ausgehobenen Erde aus. Die inficirte Erdschichte befand sich

somit 20 cm oberhalb der gleichzeitig abgelesenen Wasserstandshöhe in dem Vermessungsschachte. Während des ganzen Monats zeigte das Wasser im Schachte ziemlich grosse Schwankungen. Durch 3 Tage war der Stand sogar 20 cm höher als die Lage der inficirten Erdschichte im Cylinder. Somit war diese Schichte einer wechselnden Befeuchtung unterworfen.

Nach einmonatlicher Dauer des Versuches wurde der Cylinder aus der Erde herausgehoben, die Erde bis zur Tiefe von 30 cm abgedeckt, und sowohl aus der Schichte, die 10 cm oberhalb der inficirten Schichte lag, wie auch aus der ursprünglich inficirten Schichte, mehrere Erdproben zur bacteriologischen Untersuchung entnommen. Zu demselben Zwecke verwendete ich auch Proben aus dem untern Theile des Schachtes, in dem der Cylinder lag, und aus dessen Sohle. Die 118 Roll- und Plattenculturen, die mit den Erdproben angestellt wurden, gaben sämmtlich, was das Vorhandensein von Typhusbacillen anbelangt, einen negativen Befund. Es ist vielleicht überflüssig, wenn ich hinzufüge, dass die zum Versuch verwendeten typhösen Fäces vorher auf das Vorhandensein von Typhusbacillen geprüft wurden, dass somit die Ursache des Nichtauffindens bei beendetem Versuche nicht etwa in dem Nichtvorhandensein der Typhusbacillen beim Beginn des Versuches zu suchen sei.

Durch das zu rapide Steigen des durch unterirdische Zuflüsse im Herbst gespeisten Bregavaflusses, war ich leider nur im Stande diesen einzigen Versuch anzustellen. An meinem neuen Aufenthaltsorte sind leider die Verhältnisse zum Studium des Grundwasserstandes noch schlimmer, was wohl in dem Karstcharacter des Landes seine Erklärung findet. Der für den Karst charakteristische Mangel an Erde, die vielen unterirdischen Flüsse und Seen, die nach den neuesten Forschungen im Zusammenhange miteinander stehen, kommt hier prägnant zum Vorschein, und ich überlasse, zur Unterbrechung meiner Versuche gezwungen, späteren Forschungen das Studium des Einflusses des Grundwasserstandes auf die Lebensdauer der Typhusbacillen im Boden.

Als Schluss dieser beiden Versuchsreihen unternahm ich noch zwei Versuche mit gewöhnlichem Quarzsand, um mich zu überzeugen, ob die Beschaffenheit des Bodens einen Einfluss auf die Lebensdauer der Typhusbacillen hat.

Versuch XXIII.

Eine Partie Flusssand, von durchschnittlicher Korngrösse von 1 mm wurde an der Sonne getrocknet und in zwei 40 cm hohe und 20 cm im Durchmesser grosse Blechcylinder gethan. Nachdem die Cylinder bis zu 20 cm Höhe mit ungestampftem Sand gefüllt waren, wurde die Oberfläche mit 20 ccm einer zehntägigen, im Brutkasten aufgewachsenen Typhusbacillencultur begossen, mit demselben Sand zugeschüttet, und der Cylinder I in Zimmertemperatur ohne jedwede Bewässerung, der Cylinder II unter je alle 10 Tage wiederholter Bewässerung, mit je 10 ccm Leitungswasser, belassen.

Nach einmonatlichem Stehen wurden die obersten Schichten in beiden Cylindern abgetragen, und aus der inficirten Schicht Sandproben zur bacteriologischen Untersuchung entnommen. Sowohl in dieser Schicht als auch 4 cm unterhalb derselben waren die Typhusbacillen nachweisbar. Ich muss noch hinzufügen, das der Keimgehalt des benützten Sandes, weit hinter dem der bis jetzt benützten Erdsorten lag.

Versuch XXIV.

Auf die Oberfläche desselben Sandes, welcher in zwei grösseren Blechgefässen aufbewahrt war, goss ich je 40 ccm einer zehntägigen Bouillontyphuscultur. Nach 5 Tagen habe ich Proben aus der Oberfläche entnommen, und mich überzeugt, dass die eingesäeten Typhusbacillen auf der Oberfläche des Sandes, in Zimmertemperatur, und ohne besondere Bewässerung, noch lebensfähig waren. Da die Blechgefässe aus zwei Stücken bestanden, konnte ich das obere Drittel der Erdsäule durch Hineinschieben einer Glasscheibe, ohne Vermischung mit dem untern Theile, abtrennen, wonach die ursprünglich inficirte

Schichte, statt oberflächlich, 25 ccm unter der Oberfläche der frisch aufgeschütteten Sandsäule zu liegen kam. Nach zehntägiger Dauer des Versuches wurde die Schichte von frischem abgedeckt, und nun zeigte sich, dass im Gegensatz zu Versuch XXIII, die Typhusbacillen nicht mehr nachweisbar waren. Hier scheint es, dass der Einfluss der veränderten Verhältnisse (die Versetzung der oberflächlichen, inficirten Schicht, in die Tiefe) störend auf die Lebensdauer der Typhusbacillen wirkte.

Ich bedauere sehr, dass mir die beschränkten Verhältnisse meines Privatlaboratoriums nicht erlaubten, bei diesen Versuchen die Kohlensäureverhältnisse zu berücksichtigen. Ich bin wohl überzeugt, dass sowohl die Anzahl der Versuche, sowie deren Modificationen eine zu geringe ist, um ein endgültiges Urtheil in der Frage nach der Rolle des Bodens bei der Entstehung und Verbreitung von Typhusepidemien zuzulassen. Aus meinen Versuchen erlaube ich mir nur folgende Schlüsse zu ziehen:

I. Die längste Lebensdauer der Typhusbacillen im Boden beträgt nach meinen Untersuchungen 3 Monate.

II. Die Lebensdauer der Typhusbacillen, die mit typhösem Kothe in die Erde eingeführt wurden, und dort unter natürlichen Verhältnissen belassen worden sind, ist wesentlich kürzer als die der Blutbacillen, die in Reinculturaufschwemmung derselben Erde beigefügt wurden, was wohl der Thätigkeit der gleichzeitig zugesetzten Kothbacterien zuzuschreiben wäre.

III. In den tieferen Bodenschichten vermögen die Typhusbacillen den wechselnden Einflüssen der Temperatur, der Feuchtigkeit und Thätigkeit der Bodenmikroorganismen Trotz zu bieten.

IV. Auf der Oberfläche der Erde, der Befeuchtung und der Sonne ausgesetzt, gehen dieselben bald zu Grunde.

V. Die wechselnde, reichliche Befeuchtung, einerlei ob dieselbe von oben oder von unten die inficirte Bodenschichte trifft, kürzt die Lebensdauer der eingesäeten Typhusbacillen wesentlich.

VI. In den Bodenschichten, zu welchen die Pflanzenwurzeln reichen, ist die Lebensdauer eine sehr kurze.

VII. Während der Fäulnis der Organe von Typhusleichen kommt es zu einer beträchtlichen Temperatursteigerung.

VIII. Die Typhusbacillen können in den Organen begrabener Typhusleichen, unter Umständen bei verzögerter Fäulnis, und bei behindertem Zutritt von specifischen Fäulnisorganismen, noch nach 3 Monaten nachgewiesen werden.

Konjica, im Juni 1891.